



รายงานการวิจัย

ประจำปีงบประมาณ 2561

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

(ภาษาไทย) สุขภาวะ และชีววิทยาการสืบพันธุ์ของกบทูตในพื้นที่ปกปักพันธุกรรม
พืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ

(ภาษาอังกฤษ) Health and Reproductive Biology of the Blyth's Giant Frog
Limnonectes blythii in RSPG Area

คณะผู้วิจัย

อาจารย์ ดร. จิรารักษ์ กิตนยะ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิเชษฐ คุนซื่อ

อาจารย์ ดร. ภาณุพงศ์ ธรรมโชติ

นายรชตะ มณีอินทร์

น.ส. ยุภาพร วิสูตร

น.ส. มุกเรขา เขียวชาญชัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นพดล กิตนยะ

รองศาสตราจารย์ ผุสดี ปริยานนท์

ดร. ธงชัย ฐิติภูรี

น.ส. ธฤชวรรณ ไตรจิตต์

นายพชร สิทธิชีวภาค

น.ส. สุวิสาข์ ขอบจิตต์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่แล้วเสร็จ

พุทธศักราช 2562

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2561
คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพ
รัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี รวมทั้ง ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ตำบล
ป่าเมี่ยง อำเภอต๋อยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่
ขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้ร่วมงานทุกท่านที่ได้ให้ความ
ร่วมมือในการปฏิบัติงานภาคสนามมาเป็นอย่างดี

บทคัดย่อ

พื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ประกอบด้วยระบบนิเวศหลากหลาย ที่ยังคงสภาพอุดมสมบูรณ์ จากผลการศึกษาในภาคสนามที่ผ่านมาพบว่าในพื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จ.เชียงใหม่ มีความหลากหลายทางชีวภาพของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกค่อนข้างสูง มีสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกชนิดสำคัญ เช่น กบหูต *Limnonectes blythii* ซึ่งเป็นสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในประเทศไทยและมีสถานภาพเป็นสัตว์ป่าคุ้มครอง และจากศักยภาพในการพัฒนาเป็นสัตว์เศรษฐกิจ โดยคณะผู้วิจัยได้สำรวจสุขภาพจากค่าทางโลหิตวิทยาของกบหูตในพื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ในเดือนมกราคม พ.ศ. 2560 และกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2561 (ฤดูแล้งหนาว) เดือนเมษายน พ.ศ. 2560 (ฤดูแล้งร้อน) และเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2560 (ฤดูฝน) ได้กบหูตจำนวนทั้งหมด 23 ตัว เป็นกบเพศผู้ 13 ตัว มีน้ำหนักเฉลี่ย 295 กรัม มีความยาวจากปลายจมูกถึงรูทวารเฉลี่ย 141 มิลลิเมตร ได้กบหูตเพศเมียทั้งหมด 5 ตัว มีน้ำหนักเฉลี่ย 216 กรัม มีความยาวจากปลายจมูกถึงรูทวารเฉลี่ย 131 มิลลิเมตร และได้กบระยะ juvenile 5 ตัว จากการศึกษาทางโลหิตวิทยา พบว่ากบหูตมีเซลล์เม็ดเลือดประกอบด้วย erythrocyte, thrombocyte และ leukocyte 5 ชนิด ได้แก่ monocyte, lymphocyte, neutrophil, eosinophil และ basophil โดยที่มีลักษณะทางสัณฐานคล้ายคลึงกับกบชนิดอื่น ๆ ที่เคยมีรายงาน นอกจากนี้ยังพบว่ากบหูตมีการติดปรสิตในเลือด 3 กลุ่ม ได้แก่ *Hepatozoon sp.* มีกบหูตติดปรสิตชนิดนี้รวม 15 ตัว *Microfilaria worm* มีกบหูตติดปรสิตชนิดนี้รวม 3 ตัว และ *Trypanosoma sp.* มีกบหูตติดปรสิตชนิดนี้เพียง 1 ตัว คิดเป็นค่าความชุก (Prevalence) โดยรวมเท่ากับ 65% จากการศึกษาสัดส่วนของเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด พบว่า เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte เป็นชนิดที่พบมากที่สุด และการติดปรสิตในเลือดมีผลต่อค่าสัดส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาวบางชนิดเท่านั้น ได้แก่ ค่าสัดส่วนของ eosinophil มีค่ามากกว่าในกบหูตที่ติดปรสิต และ monocyte มีค่าต่ำกว่าในกบหูตที่ติดปรสิต ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการศึกษาสุขภาพและชีววิทยาการสืบพันธุ์ของกบหูตในพื้นที่โครงการอพ.สธ. ต่อไป เพื่อให้เข้าใจพลวัตประชากรและนิเวศวิทยาของกบหูต เพื่อการวางแผนการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ในระยะยาวต่อไป

คำสำคัญ: กบหูต โลหิตวิทยา เซลล์เม็ดเลือด นิเวศวิทยา

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	2
บทคัดย่อ	3
บทนำ	4
วัตถุประสงค์	4
ขอบเขตงานวิจัย	8
วิธีดำเนินการวิจัย	9
ผลและอภิปรายผลการศึกษา	10
สรุปผลการศึกษา	24
เอกสารอ้างอิง	26

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ข้อมูลสัณฐานวิทยาของกบทูต <i>Limnonectes blythii</i>	13
ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของน้ำหนักตัวและความยาวของกบทูต	16
ตารางที่ 3 ค่าความชุก (prevalence) ของการพบปรสิตในเลือดกบทูต	17
ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยและค่าพิสัยของ PCV ในกบทูต	18
ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยและค่าพิสัยของ erythrocyte count ของกบทูต	19
ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยและค่าพิสัยของ leukocyte count ของกบทูต	21
ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยและค่าพิสัยของ differential lymphocyte count ของกบทูต	21
ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยและค่าพิสัยของ differential monocyte count ของกบทูต	22
ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ยและค่าพิสัยของ differential basophil count ของกบทูต	22
ตารางที่ 10 ค่าเฉลี่ยและค่าพิสัยของ differential eosinophil count ของกบทูต	23
ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยและค่าพิสัยของ differential neutrophil count ของกบทูต	23

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 พื้นที่การสำรวจภาคสนาม ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ	8
ภาพที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานของกบทูต <i>Limnonectes blythii</i>	11
ภาพที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานที่ใช้จำแนกเพศกบทูตตัวเต็มวัย	11
ภาพที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานของเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆ ของกบทูต	15
ภาพที่ 5 ปรสิตรในเลือดของกบทูต <i>Limnonectes blythii</i>	17

บทนำ

พื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ประกอบด้วยระบบนิเวศหลากหลาย ตั้งแต่ระบบนิเวศบก ระบบนิเวศน้ำจืด และระบบนิเวศทะเล ที่ยังคงสภาพอุดมสมบูรณ์ จากผลการศึกษาในภาคสนามที่ผ่านมาพบว่าหลายพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกค่อนข้างสูง มีสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกชนิดสำคัญ เช่น กบทูต *Limnonectes blythii* ซึ่งเป็นสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในประเทศไทยและมีสถานภาพเป็นสัตว์ป่าคุ้มครอง และจากศักยภาพในการพัฒนาเป็นสัตว์เศรษฐกิจ ทำให้กบทูตได้รับการยอมรับให้เป็นสัตว์ป่าที่เพาะพันธุ์ได้ จึงมีการส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยงเป็นสัตว์เศรษฐกิจ หรือเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์เพื่อปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ โดยคณะผู้วิจัยได้เริ่มสำรวจสถานะจากค่าทางโลหิตวิทยาของกบทูตในพื้นที่โครงการ อพ.สธ. ตั้งแต่ปี งบประมาณ พ.ศ. 2556 และในปีงบประมาณ พ.ศ. 2560-2564 วางแผนที่จะศึกษาต่อเนื่องให้ครอบคลุมด้านสุขภาพและชีววิทยาการสืบพันธุ์ของกบทูตในพื้นที่โครงการ อพ.สธ. เพื่อให้เข้าใจพลวัตประชากรและนิเวศสรีรวิทยาของกบทูต เพื่อการวางแผนการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ในระยะยาวต่อไป

กบทูต เป็นสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่มีขนาดใหญ่ มีถิ่นอาศัยอยู่บริเวณป่าต้นน้ำบนภูเขาสูง อยู่ตามลำห้วยป่าดิบเฉพาะแห่ง พบได้ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย กัมพูชา ลาว และเวียดนาม โดยในประเทศไทยมีรายงานการสำรวจพบกบทูตทางฝั่งตะวันตก ตั้งแต่ภาคเหนือจรดภาคใต้ โดยมีรายงานการพบประชากรกบทูตธรรมชาติในพื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จ. เชียงใหม่ กบทูต จัดเป็นสัตว์ป่าคุ้มครอง ในพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 แต่จัดเป็นสัตว์ป่าชนิดที่เพาะพันธุ์ได้ และจากขนาดตัวที่จัดได้ว่ามีขนาดใหญ่ที่สุดในกลุ่มสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่พบในประเทศไทย จึงมีการส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยงเป็นสัตว์เศรษฐกิจ ตลอดจนเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์เพื่อปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ

ในการศึกษาครั้งนี้ วางแผนที่จะศึกษาด้านสุขภาพและชีววิทยาการสืบพันธุ์ของกบทูตที่อาศัยตามธรรมชาติในพื้นที่โครงการ อพ.สธ. เพื่อให้เข้าใจพลวัตประชากรและนิเวศสรีรวิทยาของกบทูต เพื่อการวางแผนการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ในระยะยาวต่อไป

วัตถุประสงค์

สำรวจสุขภาพและชีววิทยาการสืบพันธุ์ของกบทูตที่อาศัยในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ

ขอบเขตงานวิจัย

เก็บข้อมูลเกี่ยวกับสุขภาพและชีววิทยาการสืบพันธุ์ของกบทูต ในพื้นที่โครงการ อพ.สธ. ได้แก่ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จ.เชียงใหม่ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่สามารถสำรวจพบประชากรกบทูตตามธรรมชาติตลอดทั้งปี การศึกษาครั้งนี้มุ่งเน้นการประเมินปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพที่บ่งบอกสุขภาพเบื้องต้น และ ข้อมูลทางชีววิทยาการสืบพันธุ์ของกบทูตที่ใช้พื้นที่โครงการ อพ.สธ. ดังนี้

ปัจจัยทางกายภาพ

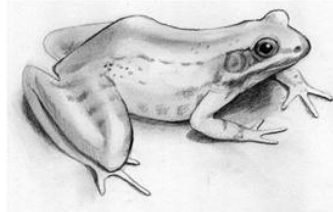
- อุณหภูมิ/ความชื้น อากาศ



สุขภาพของกบทูต

- โลหิตวิทยา

- ปริมาณน้ำฝน



- ภาวะเจริญพันธุ์

- การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม



- ชีววิทยาการสืบพันธุ์

ข้อมูลด้านนิเวศรีวิทยาเหล่านี้สามารถนำมาใช้บ่งบอกการดำรงชีวิตของกบทูตในธรรมชาติและเมื่อเก็บรวบรวมอย่างต่อเนื่องจะเป็นประโยชน์ต่อการติดตามตรวจสอบสุขภาพในระยะยาว เพื่อใช้ประโยชน์ในการอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพในพื้นที่โครงการ อพ.สธ. อย่างยั่งยืน ตลอดจนนำไปสู่การพัฒนากบทูตเป็นสัตว์เศรษฐกิจต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สํารวจประชากรของกบทูตในพื้นที่โครงการฯ บันทึกข้อมูลของสัตว์ที่พบแต่ละตัวเกี่ยวกับ เพศ ขนาด น้ำหนัก และลักษณะสัณฐานวิทยา
2. เก็บข้อมูลลักษณะสัณฐานและกายวิภาคที่เกี่ยวข้องกับชีววิทยาการสืบพันธุ์ของกบทูต บันทึกข้อมูล และถ่ายภาพ
3. เก็บตัวอย่างเลือดของกบทูต เพื่อนำมาตรวจสอบลักษณะทางโลหิตวิทยาของเนื้อเยื่อเลือด เช่น ค่าเซลล์เม็ดเลือดอัดแน่น, จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง, จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว, และค่าสัดส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด รวมทั้งศึกษาสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือด เพื่อใช้ประเมินสุขภาพโดยรวมของสัตว์ในธรรมชาติ
4. นำตัวอย่างเลือดมาปั่นแยกเพื่อเก็บน้ำเลือดมาตรวจสอบระดับฮอร์โมนที่สัมพันธ์กับความเครียด (corticosterone) และฮอร์โมนเพศ (testosterone, estrogen และ progesterone) ในห้องปฏิบัติการ
5. วิเคราะห์ข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการศึกษาในภาคสนาม และสรุปผลการศึกษา

ผลและอภิปรายผลการศึกษา

1. การสำรวจภาคสนาม

การสำรวจภาคสนามที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ.ดอยสะเก็ด จ. เชียงใหม่ พบกบหูตออาศัยอยู่ในพื้นที่ตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นป่าเบญจพรรณที่มีความอุดมสมบูรณ์ อยู่บนภูเขาที่มี แหล่งน้ำ มีลำธารน้ำผ่าน การสำรวจโดยวิธี visual encounter survey เพื่อเก็บตัวอย่างกบหูตอ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2560 ต่อเนื่องมาจนถึงปี พ.ศ. 2561 โดยทำในช่วงเดือนมกราคม (ฤดูแล้งหนาว) เดือนเมษายน (ฤดูแล้งร้อน) และ เดือนสิงหาคม (ฤดูฝน) ของปี พ.ศ. 2560 และช่วงเดือนกุมภาพันธ์ (ฤดูแล้งหนาว) ของปี พ.ศ. 2561 พบกบหูตอ ทั้งสิ้น 23 ตัว สังเกตจากลักษณะภายนอกและขนาดตัวของกบหูตอที่สำรวจพบส่วนใหญ่เป็นตัวเต็มวัยที่สมบูรณ์ ไม่มีบาดแผลหรือลักษณะภายนอกที่แสดงว่าเป็นโรค และพบกบหูตอวัยก่อนเจริญพันธุ์ด้วย



ภาพที่ 1 พื้นที่การสำรวจภาคสนาม ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ (ภาพจาก <https://en.wikipedia.org>)

2. สัณฐานวิทยาของกบหูตอ *Limnonectes blythii*

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างกบหูตอในเดือนมกราคม เดือนเมษายน และเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2560 และเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2561 ได้กบหูตอทั้งสิ้น 23 ตัว ซึ่งสามารถจำแนกเพศจากลักษณะภายนอกได้ แบ่งเป็น เพศผู้ 13 ตัว เพศเมีย 5 ตัว และวัยก่อนเจริญพันธุ์ (juvenile) 5 ตัว สำหรับกบหูตอตัวเต็มวัย สามารถแยกเพศได้จากลักษณะ secondary sexual character ที่สังเกตเห็นจากภายนอกคือ เพศผู้มีขนาดใหญ่ มีโครงสร้างเขี้ยว

เทียม (odontoid) 1 คู่ ยื่นยาวขึ้นมาจากขากรรไกรล่าง เห็นได้ชัดเจน (ภาพที่ 2) ส่วนเพศเมียมีขนาดเล็กกว่า และมีเขี้ยวเทียมสั้น ไม่ยื่นยาวขึ้นมาจากขากรรไกรล่าง เห็นเป็นตุ่มขนาดเล็ก

ข้อมูลขนาดทางสัณฐานวิทยา และน้ำหนักตัวแสดงในตารางที่ 1 และมีคำอธิบายตัวอักษรย่อ ดังนี้

Body Wt = น้ำหนักตัว (body weight)

SVL = ความยาวจากปลายจมูกถึงรูก้น (snout-vent length)

จากข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของน้ำหนักตัว (Mean \pm SD Body Wt) และความยาวจากปลายจมูกถึงรูก้น (Mean \pm SD SVL) ของกบทุกตัวแต่ละเพศ ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 2

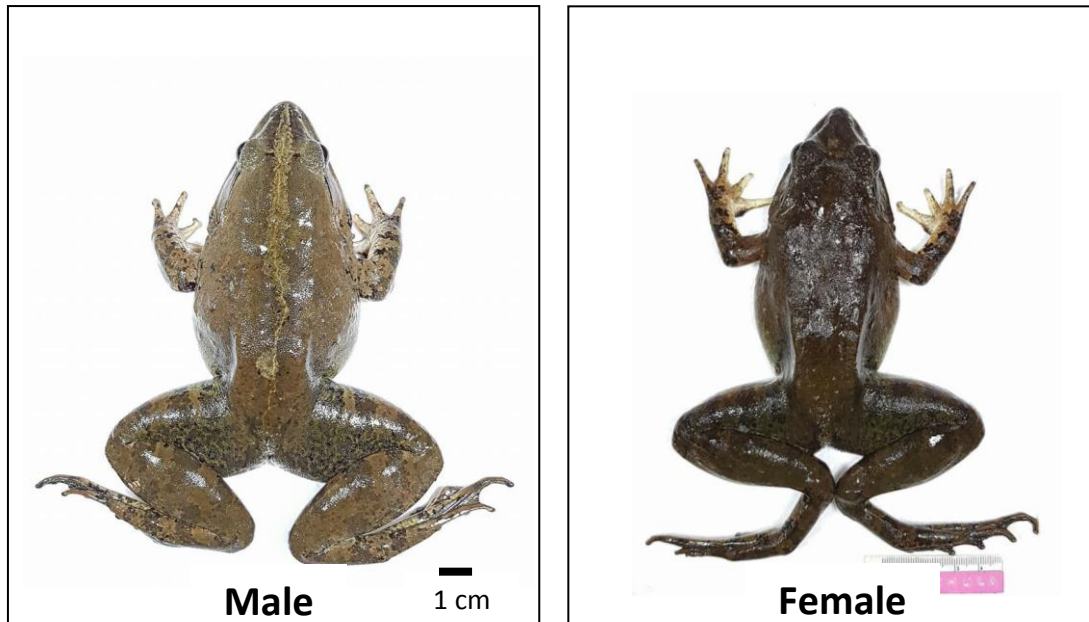
จากข้อมูลทางสัณฐานวิทยาที่ได้จากการเก็บตัวอย่างกบทุกตัวครบทั้ง 3 ฤดูกาลนี้ ทำให้ทราบในเบื้องต้นถึงน้ำหนักและขนาดตัวโดยเฉลี่ยของกบทุกตัวในพื้นที่ตามธรรมชาติ ของศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ กบทุกเพศผู้มีน้ำหนักตัวและความยาวจากปลายจมูกถึงรูก้นโดยเฉลี่ยมากกว่าเพศเมีย แต่ทั้งนี้ยังต้องมีการเก็บข้อมูลเพิ่มเติมเพื่อให้ได้จำนวนมากขึ้นและได้ข้อสรุปที่ชัดเจนขึ้น

3. โลหิตวิทยาของกบ *Limnonectes blythii*

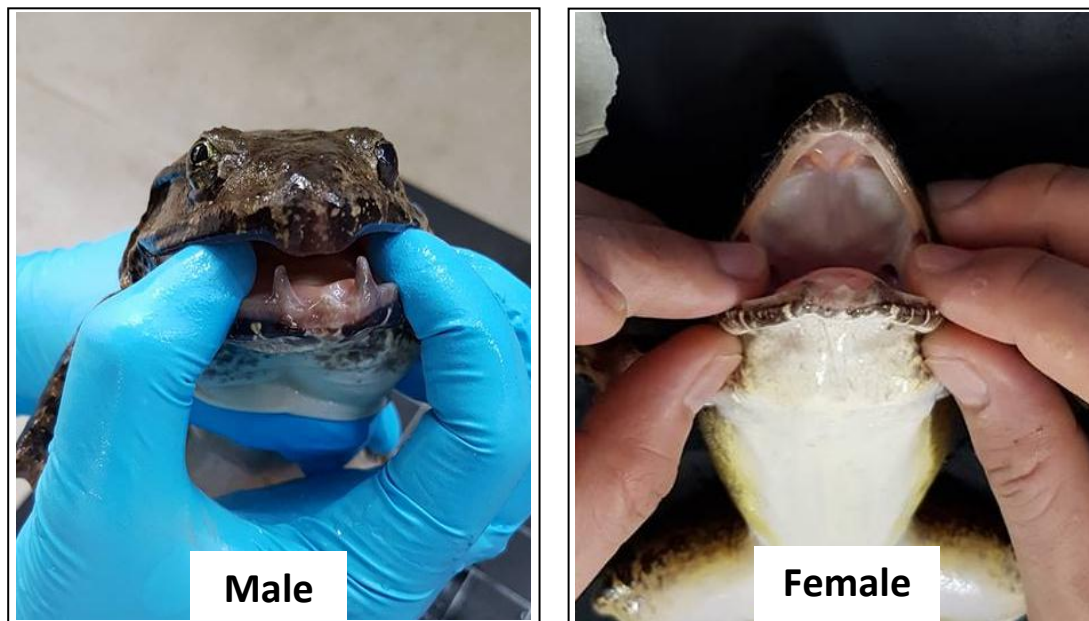
3.1 สัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือด

จากการเก็บตัวอย่างเลือดของกบทุกตัวมาศึกษาทางโลหิตวิทยาในห้องปฏิบัติการ พบว่ากบทุกตัวทั้งเพศผู้ เพศเมีย และ juvenile มีลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆ ไม่แตกต่างกัน โดยสามารถจำแนกเซลล์เม็ดเลือดออกเป็น เซลล์เม็ดเลือดแดง (erythrocyte) ทромโบไซต์ (thrombocyte) และเซลล์เม็ดเลือดขาว 5 ชนิด ได้แก่ โมโนไซต์ (monocyte) ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) นิวโทรฟิล (neutrophil) อีโอสิโนฟิล (eosinophil) และเบโซฟิล (basophil) ลักษณะพื้นฐานดังแสดงในภาพที่ 4

เซลล์เม็ดเลือดแดง (erythrocyte) ของกบทุกตัว มีรูปร่างทรงรี มีนิวเคลียสรูปร่างรีตามรูปร่างของเซลล์ มีตำแหน่งอยู่กลางเซลล์ ย้อมติดสีม่วงเข้ม ไฮโทพลาสซึมติดสีเทาจาง มีปริมาณมาก มีโครงสร้างคล้าย vesicle ใส อยู่ภายในไฮโทพลาสซึม (ภาพที่ 4A)



ภาพที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานของกบทูต *Limnonectes blythii* ตัวเต็มวัยเพศผู้ (ซ้าย) และเพศเมีย (ขวา) ที่สำรวจพบในพื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่



ภาพที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานที่ใช้จำแนกเพศกบทูตตัวเต็มวัยเพศผู้ มีเขี้ยวเทียม 1 คู่ มีลักษณะยาวขึ้นมาจากบริเวณขากรรไกรล่าง (ซ้าย) และเพศเมีย มีโครงสร้างเขี้ยวเทียมที่สั้นไม่ยื่นยาวออกมาจากขากรรไกรล่าง (ขวา)

ตารางที่ 1 ข้อมูลสัณฐานวิทยาของกบหูต *Limnonectes blythii* จากแหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติในบริเวณศูนย์
 ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ ในเดือนมกราคม เมษายน
 สิงหาคม พ.ศ. 2560 และกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2561

หมายเลข	เดือน ปี	เพศ/วัย	Body Wt (g)	SVL (mm)
LB001	มกราคม 60	Male	255	136.44
LB002	มกราคม 60	Male	235	128.46
LB003	มกราคม 60	Male	225	130.98
LB004	มกราคม 60	Male	160	123.71
LB005	มกราคม 60	Male	400	158.66
LB006	มกราคม 60	Female	230	138.06
LB007	เมษายน 60	Male	420	152.77
LB008	เมษายน 60	Female	225	129.37
LB009	เมษายน 60	Female	170	115.21
LB010	เมษายน 60	Juvenile	95	94.97
LB011	สิงหาคม 60	Male	400	158.08
LB012	สิงหาคม 60	Female	205	135.76
LB013	สิงหาคม 60	Juvenile	40	77.97
LB014	สิงหาคม 60	Juvenile	50	85.95
LB015	กุมภาพันธ์ 61	Male	305	142.85
LB016	กุมภาพันธ์ 61	Male	395	159.48
LB017	กุมภาพันธ์ 61	Male	240	128.86
LB018	กุมภาพันธ์ 61	Male	250	132.66
LB019	กุมภาพันธ์ 61	Male	270	135.21
LB020	กุมภาพันธ์ 61	Male	285	138.82
LB021	กุมภาพันธ์ 61	Female	250	138.04
LB022	กุมภาพันธ์ 61	Juvenile	155	114.22
LB023	กุมภาพันธ์ 61	Juvenile	90	94.95

จากการจัดจำแนกโดยอาศัยสัณฐานวิทยาขององค์ประกอบเซลล์ นิวเคลียส ไซโทพลาสซึม และ cytoplasmic granule พบว่าเซลล์เม็ดเลือดขาวของกบทุกชนิดที่พบในการศึกษาครั้งนี้มี 5 ชนิด ได้แก่ ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) โมโนไซต์ (monocyte) นิวโทรฟิล (neutrophil) อีโอสิโนฟิล (eosinophil) และเบโซฟิล (basophil) เซลล์แต่ละชนิดมีลักษณะสัณฐานจำเพาะดังต่อไปนี้

เซลล์เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ (lymphocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวในกลุ่ม agranulocyte ไม่มีแกรนูลภายในไซโทพลาสซึม เซลล์มีรูปร่างกลม ขนาดเล็ก มีนิวเคลียสกลม โคโรมาตินหนาแน่นย้อมติดสีม่วงเข้ม ใหญ่เกือบเต็มเซลล์ นิวเคลียสอยู่ในตำแหน่งกลางเซลล์ มีไซโทพลาสซึมน้อยมาก ย้อมติดสีม่วงอมน้ำเงินจาง (ภาพที่ 4A)

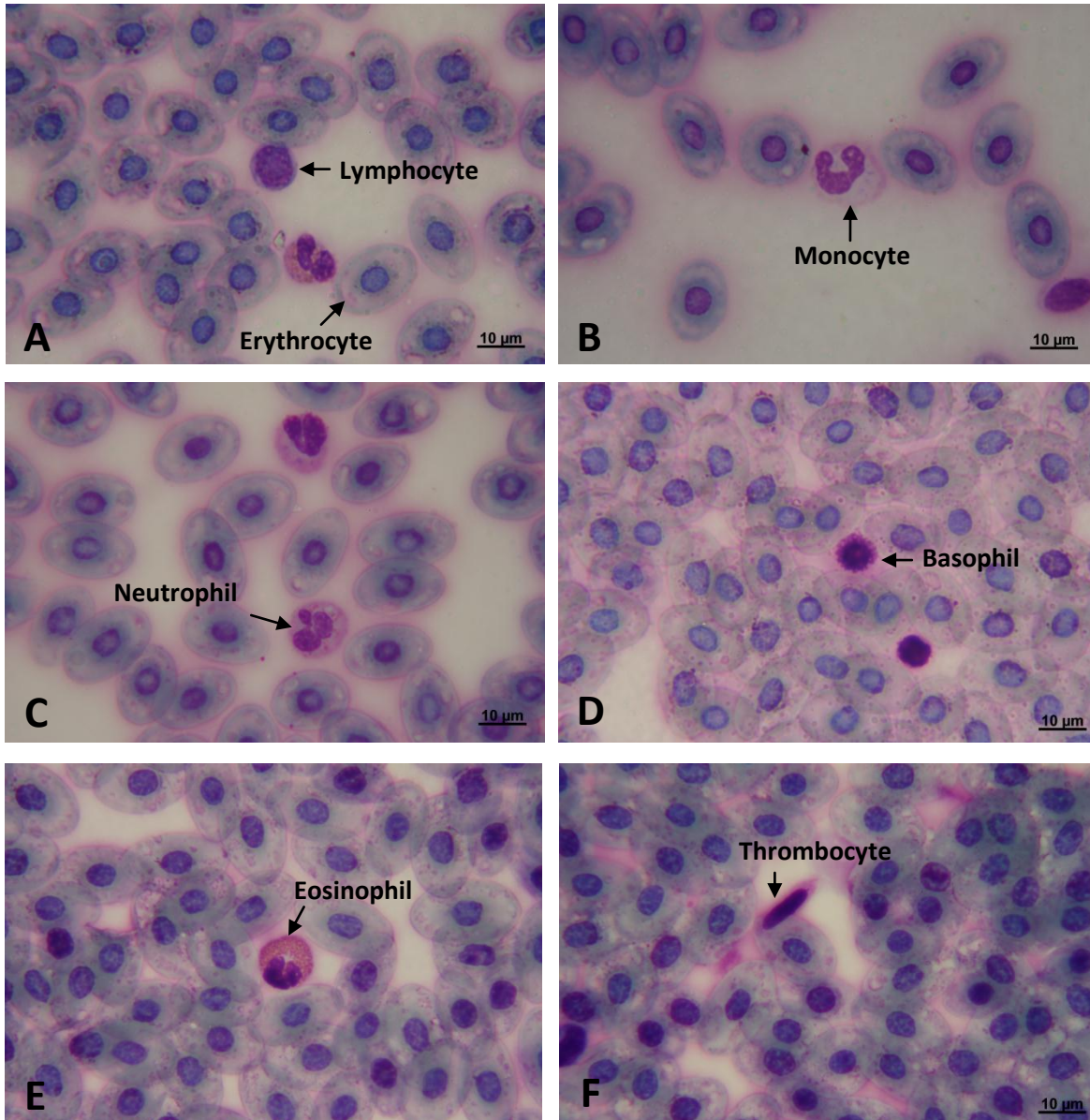
เซลล์เม็ดเลือดขาวโมโนไซต์ (monocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวในกลุ่ม agranulocyte ไม่มีแกรนูลภายในไซโทพลาสซึม เซลล์มีรูปร่างกลม ขนาดใหญ่ มีนิวเคลียสรูปร่างรี หรือรูปถั่ว หรืออาจพบเป็นรูปตัว U ตำแหน่งเอียงไปทางด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ ไม่อยู่กลางเซลล์ มีปริมาณไซโทพลาสซึมมาก ย้อมติดสีม่วงจาง (ภาพที่ 4B)

เซลล์เม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิล (neutrophil) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวในกลุ่ม granulocyte แต่สังเกตเห็นแกรนูลได้ไม่ชัดเจนในระดับที่ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง เซลล์มีรูปร่างกลม มีลักษณะเด่นคือ มีนิวเคลียสหลายพู อยู่ค่อนข้างกลางเซลล์ ไซโทพลาสซึมย้อมติดสีม่วงจาง (ภาพที่ 4C)

เซลล์เม็ดเลือดขาวเบโซฟิล (basophil) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวในกลุ่ม granulocyte ที่สังเกตเห็นแกรนูลได้ชัดเจน ระดับที่ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงจะเห็นแกรนูลขนาดใหญ่ รูปร่างค่อนข้างกลม ย้อมติดสีม่วงเข้ม กระจายเต็มไซโทพลาสซึม เซลล์มีรูปร่างกลม มีขนาดเล็กกว่านิวโทรฟิล และใหญ่กว่าลิมโฟไซต์เล็กน้อย นิวเคลียสคล้ายมีรูปร่างกลมอยู่กลางเซลล์ แต่เห็นไม่ชัดเจนเนื่องจากถูกแกรนูลบัง (ภาพที่ 4D)

เซลล์เม็ดเลือดขาวอีโอสิโนฟิล (eosinophil) เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวในกลุ่ม granulocyte ที่สามารถสังเกตเห็นแกรนูลได้ชัดเจน ในระดับที่ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงจะเห็นแกรนูลรูปร่างกลม ย้อมติดสีแดงอมส้ม กระจายเต็มไซโทพลาสซึม เซลล์มีรูปร่างกลม มีนิวเคลียส 2 พู อยู่เอียงชิดขอบด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ (ภาพที่ 4E)

นอกจากเซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ แล้ว ในกบทุกชนิดยังพบ thrombocyte เป็นเซลล์มีรูปร่างรีคล้ายกระสวย มีนิวเคลียสรูปร่างรี โคโรมาตินหนาแน่นย้อมติดสีม่วงเข้ม อยู่กลางเซลล์ ไซโทพลาสซึมย้อมติดสีม่วงจางสังเกตเห็นชัดที่หัวและท้ายเซลล์ (ภาพที่ 4F)



ภาพที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานของเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆ ของกบหูต *Limnonectes blythii* (A) Erythrocyte และ lymphocyte (B) Monocyte (C) Neutrophil (D) Basophil (E) Eosinophil (F) Thrombocyte

Giemsa stain; bar = 10 µm

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดแต่ละชนิดของกบทูต *L. blythii* มีลักษณะพื้นฐานคล้ายคลึงกับที่เคยมีรายงานไว้ในกบชนิดอื่นๆ (Claver and Quaglia, 2009; Meesawat et al., 2016) โดยไม่พบลักษณะสัณฐานเซลล์เม็ดเลือดที่ผิดปกติ และไม่พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด heterophil ซึ่งเป็น acidophil ที่มีแกรนูโลสีแดงรูปร่างกระสวย ในกลุ่มประชากรกบทูตที่ศึกษา

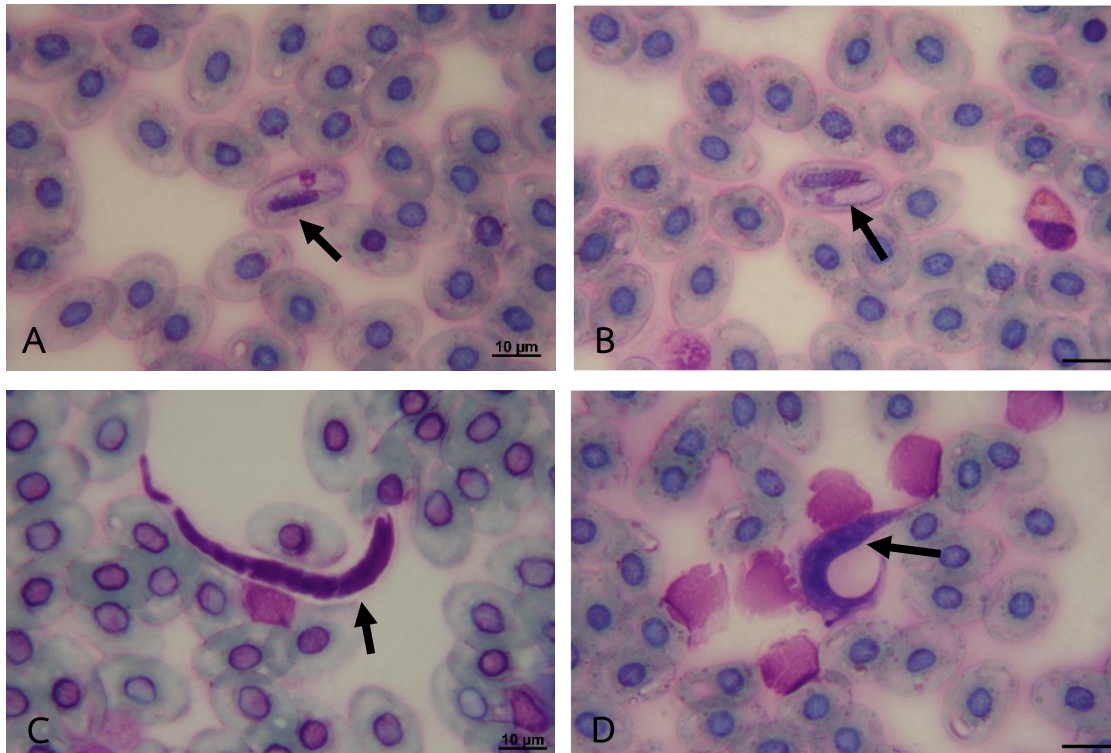
3.2 ปรสิตในเลือด

จากการศึกษาโลหิตวิทยาจาก blood smear ที่ย้อมสี Giemsa stain ของกบทูตจากแหล่งธรรมชาติในพื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ ทั้งหมด 23 ตัว พบว่ามีกบทูตจำนวน 15 ตัว มีการติดปรสิตในเลือด หรือคิดเป็นค่าความชุก (Prevalence) โดยรวมถึง 65% สามารถจำแนกตามชนิดของปรสิตในเลือดที่ติดในกบทูตเพศและวัยต่าง ๆ กัน ดังตารางที่ 3

ปรสิตในเลือดที่ติดในกบทูต จำแนกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ปรสิตเลือดกลุ่ม *Hepatozoon sp.* มีกบทูตติดปรสิตชนิดนี้รวม 15 ตัว ปรสิตเลือดกลุ่ม *Microfilaria worm* มีกบทูตติดปรสิตชนิดนี้รวม 3 ตัว และปรสิตเลือดกลุ่ม *Trypanosoma sp.* มีกบทูตติดปรสิตชนิดนี้เพียง 1 ตัว มีลักษณะดังภาพที่ 5

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของน้ำหนักตัว และความยาวจากปลายจมูกถึงรู้งันของกบทูต *Limnonectes blythii* จากแหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติในบริเวณศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ ในเดือนมกราคม เมษายน สิงหาคม พ.ศ. 2560 และกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2561

Sex	Body Wt (g)	SVL (mm)
	Mean \pm SD	Mean \pm SD
Male (n=13)	295 \pm 83	141 \pm 13
Female (n=5)	216 \pm 30	131 \pm 10
Juvenile (n=5)	86 \pm 45	94 \pm 14



ภาพที่ 5 ปรสิตในเลือดของกบทูต *Limnonectes blythii* จากแหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติในบริเวณศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ (A) *Hepatozoon* sp. (B) *Hepatozoon* sp. (C) *Microfilaria* worm (D) *Trypanosoma* sp.

Giemsa stain; bar = 10 µm

ตารางที่ 3 ค่าความชุก (prevalence) ของการพบปรสิตในเลือดกบทูต *Limnonectes blythii* จากแหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติในบริเวณศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ ในเดือนมกราคม เมษายน สิงหาคม พ.ศ. 2560 และกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2561

Type of Parasite	N	Sex		Juvenile	Prevalence
		Male	Female		
<i>Hepatozoon</i> sp.	15	9	4	2	65%
<i>Microfilaria</i> worm	3	1	1	1	13%
<i>Trypanosoma</i> sp.	1	1	-	-	4%

3.3 ค่าทางโลหิตวิทยา

จากการที่พบว่ากบหูตในพื้นที่ที่มีภาวะติดปรสิตในเลือด ในการหาค่าทางโลหิตวิทยาจะแยกระหว่างกบหูตที่ไม่มีปรสิตในเลือดและกบที่มีภาวะติดปรสิตในเลือด เพื่อตรวจสอบก่อนว่าค่าต่าง ๆ มีความแตกต่างกันหรือไม่ ในการศึกษาได้ทำการเก็บค่าทางโลหิตวิทยาทั้งหมด 4 ค่า ได้แก่ ค่าเซลล์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น (packed cell volume, PCV), ค่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง (erythrocyte count), ค่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว (leukocyte count) และค่าสัดส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาว (differential leukocyte count) ได้ผลการศึกษาดังต่อไปนี้

ค่าเซลล์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น (PCV)

จากผลการวัดค่า PCV ของกบหูตดังแสดงในตารางที่ 4 เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติแล้วพบว่าค่า PCV ของกบหูตไม่มีความแตกต่างกันระหว่างเพศ และไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกบหูตเพศเดียวกันที่ปกติ กับกบหูตที่ติดปรสิตในเลือด แสดงว่าค่า PCV ในกบหูตกลุ่มนี้อาจยังไม่ได้รับผลกระทบจากภาวะการติดปรสิตในเลือด

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าพิสัยของ PCV ในกบหูต *Limnonectes blythii* ที่ไม่มีปรสิตในเลือด จากแหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติในบริเวณศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ ในปี พ.ศ. 2560 – 2561

Sex	Group	N	PCV (%)	PCV (%)
			Mean \pm SD	Range
Male	Normal	4	28.13 \pm 6.97	19.00 - 34.5
	Infected	9	25.28 \pm 7.97	11.50 - 36.00
Female	Normal	1	5	-
	Infected	4	22.00 \pm 5.55	15.00 - 28.50
Juvenile	Normal	3	19.83 \pm 3.40	16.00 - 22.5
	Infected	2	23.50 \pm 0.71	23.00 - 24.00

ค่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง (Erythrocyte count)

ผลการสุ่มนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงของกบหูด แสดงในตารางที่ 5 เมื่อนำค่าที่ได้มาทำการทดสอบทางสถิติแล้วพบว่า ค่า erythrocyte count ของกบหูดไม่มีความแตกต่างกันระหว่างเพศ และไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกบหูดปกติกับกบหูดที่ไม่ติดปรสิต

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าพิสัยของ erythrocyte count ของกบหูด *Limnonectes blythii* ที่จับจากพื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างปี พ.ศ. 2560 – 2561

Sex	Group	N	Erythrocyte ($\times 10^5$ cells/ μ l)	Erythrocyte ($\times 10^5$ cells/ μ l)
			Mean \pm SD	Range
Male	Normal	3	2.12 \pm 0.17	1.95 - 2.30
	Infected	5	2.56 \pm 0.83	1.45 - 3.40
Female	Normal	0	-	-
	Infected	4	2.21 \pm 0.44	1.90 - 2.87
Juvenile	Normal	3	1.92 \pm 0.98	0.95 - 2.92
	Infected	2	2.47 \pm 0.21	2.33 - 2.63

ค่าจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว (Leukocyte count)

ผลการสุ่มนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวของกบหูด แสดงในตารางที่ 6 เมื่อนำค่าที่ได้มาทำการทดสอบทางสถิติแล้วพบว่าค่า leukocyte count ของกบหูดไม่มีความแตกต่างกันระหว่างเพศ และไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกบหูดปกติกับกบหูดที่ไม่ติดปรสิต

ค่าสัดส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาว (Differential leukocyte count)

ผลการสุ่มนับสัดส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดของกบหูด ได้แก่ ค่า differential lymphocyte count, differential monocyte count, differential basophil count, differential eosinophil count และ differential neutrophil count แสดงในตารางที่ 7-11 ตามลำดับ

เมื่อนำค่าที่ได้มาทำการทดสอบทางสถิติแล้วพบว่าค่าสัดส่วนของเซลล์เม็ดเลือดขาวทุกชนิดของกบหูดไม่มีความแตกต่างกันระหว่างเพศ แต่ค่าเฉลี่ย differential eosinophil count มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกบหูดปกติกับกบหูดที่ไม่ติดปรสิต โดยมีค่ามากกว่าในกบหูดที่ติดปรสิต กบหูดเพศผู้ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.010$ กบหูดกลุ่ม Juvenile มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.016$ และในกบหูดเพศเมียก็มีแนวโน้มเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ยังมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของ

ค่าเฉลี่ย differential monocyte count โดยในกบหูตเพศผู้มีค่าน้อยกว่าในกบที่ติดปรสิต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.014$

จากการที่พบกบหูตติดปรสิตในเลือดถึง 18 ตัว จากกบทั้งหมด 23 ตัว ทำให้ไม่สามารถทำการเปรียบเทียบค่าทางโลหิตวิทยาระหว่างเพศและฤดูกาลได้ เนื่องจากเหลือจำนวนกบปกติน้อยเกินไป งานวิจัยนี้จึงทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าทางโลหิตวิทยาระหว่างกบปกติ และกบที่ติดเชื้อปรสิต ผลที่ได้พบว่าจากการที่กบหูตติดปรสิตทำให้มีผลต่อค่าสัดส่วนของเซลล์เม็ดเลือดขาวบางชนิด โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีการเปลี่ยนแปลง คือค่าสัดส่วนของ eosinophil และ monocyte ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของสัดส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาวดังกล่าว น่าจะเกิดจากการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันภายในร่างกายต่อการติดเชื้อปรสิต (Campbell, 2015) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ค่าสัดส่วนของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด eosinophil ซึ่งพบว่ามีค่ามากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกบหูตที่ติดปรสิตทั้งเพศผู้ เพศเมีย และใน juvenile น่าจะเกิดจากการตอบสนองต่อการติดเชื้อปรสิตโดยตรง เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนี้มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดเชื้อปรสิตในร่างกาย (Shutler et al. 2009; Campbell et al. 2015)

เซลล์เม็ดเลือดขาวอีกชนิดหนึ่งที่มีการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนคือ monocyte ซึ่งในกบหูตที่ติดปรสิตเพศผู้ มีค่าน้อยกว่ากบปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในเพศเมียและ juvenile ก็พบว่ามีแนวโน้มเช่นเดียวกัน การลดลงของค่าสัดส่วน monocyte อาจเกิดจากการตอบสนองต่อการเกิดการอักเสบที่เกิดจากปรสิตที่อยู่บริเวณเนื้อเยื่อ โดยเกิดจากการที่ monocyte ออกจากหลอดเลือดเพื่อเคลื่อนที่เข้าไปยังบริเวณเนื้อเยื่อที่อักเสบ (Hu et al. 2017)

จากการศึกษาสัดส่วนของเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด พบว่า เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte พบมากที่สุดในเลือดของกบหูตปกติ ทั้งในเพศผู้ (57.50 ± 2.27 %) เพศเมีย (72%) และ Juvenile (67.50 ± 16.53 %) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนี้ มีรายงานว่าพบได้ทั่วไปในปริมาณมากในเลือดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกชนิดอื่นเช่นเดียวกัน เช่น กบนา, wood frog และใน tropical clawed frog (Meesawat et al., 2015; Forzan et al., 2016; Maxham et al., 2016) รวมถึงใน Northern banded newt (Tosunoglu et al., 2011)

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าพิสัยของ leukocyte count ของกบทูต *Limnonectes blythii* ที่จับจากพื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างปี พ.ศ. 2560 – 2561

Sex	Group	N	Leukocyte ($\times 10^3$ cells/ μ l)	Leukocyte ($\times 10^3$ cells/ μ l)
			Mean \pm SD	Range
Male	Normal	3	13.83 \pm 2.84	11.50 - 17.00
	Infected	5	23.95 \pm 6.99	14.50 - 30.00
Female	Normal	0	-	-
	Infected	4	20.25 \pm 5.67	14.25-2.75
Juvenile	Normal	3	20.00 \pm 0.81	14.50 - 29.25
	Infected	2	18.13 \pm 3.36	15.75 – 20.50

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าพิสัยของ differential lymphocyte count ของกบทูต *Limnonectes blythii* ที่จับจากพื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างปี พ.ศ. 2560 - 2561

Sex	Group	N	Lymphocyte (%)	Lymphocyte (%)
			Mean \pm SD	Range
Male	Normal	4	57.50 \pm 2.27	54.50 - 59.50
	Infected	9	53.83 \pm 6.16	41.00 - 64.00
Female	Normal	1	72	-
	Infected	4	58.1 \pm 6.52	49.00 - 64.50
Juvenile	Normal	3	67.50 \pm 16.53	53.00 - 85.50
	Infected	2	59.75 \pm 1.77	58.50 – 61.00

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าพิสัยของ differential monocyte count ของกบหูด *Limnonectes blythii* ที่จับจากพื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัด เชียงใหม่ ระหว่างปี พ.ศ. 2560 – 2561

Sex	Group	N	Monocyte (%) (Mean \pm SD)	Monocyte (%) Range
Male	Normal	4	29.75 \pm 2.60 *	28.00 - 33.50
	Infected	9	22.50 \pm 4.60 *	16.00 - 29.00
Female	Normal	1	18.50	-
	Infected	4	17.75 \pm 5.50	12.50 - 25.50
Juvenile	Normal	3	22.33 \pm 13.90	6.50 - 32.50
	Infected	2	16.50 \pm 2.12	15.00 - 18.00

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ, Student's t-test ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าพิสัยของ differential basophil count ของกบหูด *Limnonectes blythii* ที่จับจากพื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัด เชียงใหม่ ระหว่างปี พ.ศ. 2560 – 2561

Sex	Group	N	Basophil (%) Mean \pm SD	Basophil (%) Range
Male	Normal	4	1.13 \pm 0.75	0.00 - 1.50
	Infected	9	0.94 \pm 0.63	0.00 - 2.00
Female	Normal	1	0	-
	Infected	4	1.00 \pm 0.58	0.50 - 1.50
Juvenile	Normal	3	1.00 \pm 0.50	0.50 - 1.50
	Infected	2	1.80 \pm 0.35	1.50 - 2.00

ตารางที่ 10 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าพิสัยของ differential eosinophil count ของกบหูด *Limnonectes blythii* ที่จับจากพื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัด เชียงใหม่ ระหว่างปี พ.ศ. 2560 – 2561

Sex	Group	N	Eosinophil (%)	Eosinophil (%)
			Mean \pm SD	Range
Male	Normal	4	6.50 \pm 1.22 *	5.00 - 7.50
	Infected	9	15.44 \pm 3.35 *	7.50 - 19.50
Female	Normal	1	5.50 *	-
	Infected	4	15.50 \pm 4.74 *	10.00 - 21.50
Juvenile	Normal	3	4.67 \pm 2.57 *	2.50 - 7.50
	Infected	2	15.25 \pm 1.77 *	14.00 - 16.50

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ, Student's t-test ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าพิสัยของ differential neutrophil count ของกบหูด *Limnonectes blythii* ที่จับจากพื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัด เชียงใหม่ ระหว่างปี พ.ศ. 2560 – 2561

Sex	Group	N	Neutrophil (%)	Range
			(Mean \pm SD)	
Male	Normal	4	5.25 \pm 1.50	4.00 - 7.00
	Infected	9	6.61 \pm 2.55	4.00 - 12.00
Female	Normal	1	4.00	-
	Infected	4	7.63 \pm 1.89	5.00 - 9.00
Juvenile	Normal	3	4.50 \pm 1.80	2.50 - 6.00
	Infected	2	6.75 \pm 1.77	5.50 - 8.00

สรุปผลการศึกษา

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ เป็นหนึ่งในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ที่ได้รับการฟื้นฟูจนมีสภาพระบบนิเวศที่อุดมสมบูรณ์ เป็นที่อยู่อาศัยของสัตว์สำคัญหลายชนิด รวมทั้งกบทูต *Limnonectes blythii* ซึ่งเป็นสัตว์ป่าคุ้มครอง ในพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 จากการสำรวจภาคสนามด้วยวิธี visual encounter survey ในฤดูแล้วหนาว (เดือนมกราคม-กุมภาพันธ์) ฤดูแล้งร้อน (เดือนเมษายน) และฤดูฝน (เดือนสิงหาคม) ในปี พ.ศ. 2560 ถึงปี พ.ศ.2561 พบกบทูตเพศผู้ 13 ตัว เพศเมีย 5 ตัว และกบทูตก่อนวัยเจริญพันธุ์ (juvenile) 5 ตัว รวมทั้งหมด 23 ตัว ทั้งหมดมีลักษณะภายนอกที่สมบูรณ์ ไม่พบแผลหรือการติดเชื้อที่ผิวหนังใดๆ โดยเพศผู้มีขนาดใหญ่กว่าเพศเมีย โดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวและ SVL เท่ากับ 295 ± 83 กรัม และ 141 ± 13 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่เพศเมียมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวและ SVL เท่ากับ 216 ± 30 กรัม และ 131 ± 10 มิลลิเมตร ตามลำดับ

จากการตรวจสอบทางโลหิตวิทยา พบการติดปรสิตในเลือด 3 กลุ่ม ได้แก่ *Hepatozoon sp.* มีกบทูตติดปรสิตชนิดนี้รวม 15 ตัว *Microfilaria worm* มีกบทูตติดปรสิตชนิดนี้รวม 3 ตัว และ *Trypanosoma sp.* มีกบทูตติดปรสิตชนิดนี้เพียง 1 ตัว คิดเป็นค่าความชุก (Prevalence) โดยรวมเท่ากับ 65% การศึกษาค่าเซลล์เม็ดเลือดอัดแน่น หรือ PCV ไม่พบความแตกต่างกันระหว่างกบทูตเพศเดียวกันที่ปกติ กับกบทูตที่ติดปรสิตเลือด แสดงว่าค่า PCV ในกบทูตกลุ่มนี้อาจยังไม่ได้รับผลกระทบจากภาวะการติดปรสิตในเลือด กบทูตทั้งเพศผู้ เพศเมีย และ juvenile มีลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆ ไม่แตกต่างกัน โดยสามารถจำแนกเซลล์เม็ดเลือดออกเป็น เซลล์เม็ดเลือดแดง (erythrocyte) ทромโบไซต์ (thrombocyte) และเซลล์เม็ดเลือดขาว 5 ชนิด ได้แก่ โมโนไซต์ (monocyte) ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) นิวโทรฟิล (neutrophil) อีโอสิโนฟิล (eosinophil) และเบโซฟิล (basophil) โดยไม่พบลักษณะสัญญาณเซลล์เม็ดเลือดที่ผิดปกติ จากการศึกษาสัดส่วนของเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด พบว่า เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte เป็นชนิดที่พบมากที่สุดในการศึกษา และ การติดปรสิตในเลือดมีผลต่อค่าสัดส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาวบางชนิดเท่านั้น ได้แก่ ค่าสัดส่วนของ eosinophil มีค่ามากกว่าในกบทูตที่ติดปรสิต และ monocyte มีค่าต่ำกว่าในกบทูตที่ติดปรสิต

จากการศึกษาทางโลหิตวิทยาของกบทูตที่อาศัยตามธรรมชาติ ในพื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดเชียงใหม่ ในทุกฤดูกาล ระหว่างปี พ.ศ. 2560 – 2561 ทำให้ได้ข้อมูลที่จะใช้เป็นพื้นฐานในการประเมินสุขภาพของกบทูตที่อาศัยในธรรมชาติ และสามารถบ่งบอกถึงความสัมพันธ์ระหว่าง

กบฏกับสิ่งแวดล้อมที่อาศัยอยู่ได้ นอกจากนี้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยา และโลหิตวิทยาของกบฏที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับชีววิทยา และสุขภาพของกบชนิดนี้ในธรรมชาติ เพื่อการวางแผนอนุรักษ์ต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2546. กฎกระทรวงกำหนดให้สัตว์ป่าบางชนิดเป็นสัตว์ป่าคุ้มครอง พ.ศ.2546
- Campbell, T.W. 2015. *Exotic Animal Hematology and Cytology*, 4th ed. Singapore: Wiley Blackwell.
- Claver, J.A. and Quaglia, A.I.E. 2009. Comparative morphology, development, and function of blood cells in nonmammalian vertebrates. *Journal of Exotic Pet Medicine* 18: 87-97.
- van Dijk, P.P. and Iskandar, D. 2004. *Limnonectes blythii*. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. International Union for Conservation of Nature. Retrieved 1 March 2015.
- Emerson, S.B., Carroll, L. and Hess, D.L. 1997. Hormonal induction of thumb pads and the evolution of secondary sexual characteristics of the Southeast Asian fanged frog, *Rana blythii*. *Journal of Experimental Zoology* 279: 587-596.
- Forzan M.J., Smith T.G., Vanderstichel R.V., Hogan N.S. and Gilroy C.V. 2016. Hematologic reference intervals for *Rana sylvatica* (*Lithobates sylvaticus*) and effect of infection with Frog Virus 3 (*Ranavirus sp.*, *Iridoviridae*). *Veterinary Clinical Pathology* 45: 430-443.
- Gross, W.B. and Siegel, H.S. 1983. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Diseases* 27: 972-979.
- Hu, S., Wei, W. and Korner, H. 2017. The role of monocyte in models of infection by protozoan parasites. *Molecular Immunology* 88: 174-184.
- Maxham, L.A., Forzan, M.J., Hogan, N.S., Vanderstichel, R.V., and Gilroy, C.V. 2016. Hematological reference intervals for *Xenopus tropicalis* with partial use of automatic counting methods and reliability of long-term stored samples. *Veterinary Clinical Pathology* 45: 291–299.

- Meesawat, S., Kitana, N. and Kitana, J. 2016. Hematology of wild caught *Hoplobatrachus rugulosus* in northern Thailand. **Asian Herpetological Research** 7: 131-138.
- Natt, M.P. and Herrick, C.A. 1952. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science** 31: 735-738.
- Shutler, D., Smith, T.G. and Robinson, S.R. 2009. Relationships between leukocyte and hepatozoon spp. in green frog, *Rana Clamitans*. **Journal of Wildlife Disease** 45: 67-72.
- Tharp, G.D. and Woodman, D.A. 2002. **Experiments in Physiology**, 8th ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall. pp. 211-235.
- Tosunoglu, M., Tok, C.V., Olgun, K., Ozdemir, N. and Gul, C. 2011. Hematology of the northern banded newt, *Ommatotriton ophryticus* (Amphibia: Urodela) from North Anatolia. **Russian Journal of Herpetology** 18: 59-64.